Machine Translated by Google

BMJ Open Gastroenterology

Mistede mikrober fra COVID-19: *Bifidobacterium, Faecalibacterium* udtømning og nedsat mikrobiomdiversitet forbundet med SARS-CoV-2-infektionssværhedsgrad

Sabine Hazan,1 Neil Stollman,2 Huseyin S Bozkurt,3 Sonya Dave ,4,5
Andreas J Papoutsis,1 Jordan Daniels,1 Brad D Barrows,1
Eamonn MM Quigley , Thomas J Borody

At citere: Hazan S, Stollman N, Bozkurt HS m.fl. Mistede mikrober fra COVID-19: Bifidobacterium-, Faecalibacterium-udtømning og nedsat mikrobiomdiversitet forbundet med SARS-CoV-2-infektionssværhedsgrad. BMJ Open Gastro 2022;9:e000871. doi:10.1136/bmjgast-2022-000871

ÿ Yderligere supplerende materiale udgives kun online. For at se det, besøg venligst tidsskriftet online (http://dx.doi). org/10.1136/bmjgast-2022-000871).

Modtaget 3. januar 2022
Accepteret 28. marts 2022

© Forfatter(e) (eller deres arbejdsgiver(e)) 2022. Genbrug tilladt under CC BY-NC. Ingen kommerciel genbrug. Se rettigheder og tilladelser. Udgivet af BMJ.

For nummererede tilhørsforhold se slutningen af artiklen.

Korrespondance til
Dr. Sabine Hazan;
DrHazan@progenabiome.com

ABSTRAKT

Formål Studiets formål var at sammenligne tarmmikrobiomets diversitet og sammensætning hos SARS-CoV-2 PCR-positive patienter, hvis symptomer varierede fra asymptomatiske til svære, versus PCR-negative eksponerede kontrolpersoner.

Design Ved hjælp af et tværsnitsdesign udførte vi shotgun next-generation sequencing på afføringsprøver for at evaluere tarmmikrobiomets sammensætning og diversitet hos både patienter med SARS-CoV-2 PCR-bekræftede infektioner, som havde præsenteret sig for behandling hos Ventura Clinical Trials fra marts 2020 til oktober 2021 og SARS-CoV-2 PCR-negative eksponerede kontrolpersoner. Patienterne blev klassificeret som værende asymptomatiske eller med milde, moderate eller svære symptomer baseret på National Institutes of Healths kriterier. Eksponerede kontrolpersoner var personer med langvarig eller gentagen tæt kontakt med patienter med SARS-CoV-2-infektion eller deres prøver, for eksempel medlemmer af patienters husstand eller sundhedspersonale i frontlinjen. Mikrobiomdiversitet og -sammensætning blev sammenlignet mellem patienter og eksponerede kontrolpersoner på alle taksonomiske niveauer.

Resultater Sammenlignet med kontrolgruppen (n=20) havde svært symptomatiske SARS-CoV-2-inficerede patienter (n=28) signifikant mindre bakteriediversitet (Shannon-indeks, p=0,0499; Simpson-indeks, p=0,0581), og positive patienter havde generelt lavere relative forekomster af Bifidobacterium (p<0,0001), Faecalibacterium (p=0,0077) og Roseburium (p=0,0327), mens de havde en stigning i Bacteroides (p=0,0075). Interessant nok var der en omvendt sammenhæng mellem sygdommens sværhedsgrad og forekomsten af de samme bakterier.

Konklusion Vi antager, at lav bakteriel diversitet og reduktion af Bifidobacterium-slægter enten før eller efter infektion førte til reduceret proimmunfunktion, hvorved SARS-CoV-2-infektion blev symptomatisk. Dette særlige dysbiosemønster kan være en modtagelighedsmarkør for symptomatisk sværhedsgrad fra SARS-CoV-2-infektion og kan være modtagelig for præinfektion.

intervention under eller efter infektion.

Forsøgsregistreringsnummer NCT04031469 (PCRÿ) og 04359836 (PCR+).

Oversigtsboks

Hvad ved man allerede om dette emne?

ÿ Tarmmikrobiomet er uløseligt forbundet med værtens immunrespons (f.eks. inflammation, Th1 vs. Th2) og modtagelighed for infektion.

Hvad er de nye resultater?

ÿ Patienter med SARS-CoV-2-infektioner har betydeligt mindre bakteriediversitet og en lavere forekomst af Bifidobacterium og Faecalibacterium og øget forekomst af Bacteroides ved slægtsniveau sammenlignet med SARS-CoV-2-eksponerede kontrolpersoner. Der er omvendte sammenhænge mellem sygdommens sværhedsgrad og Shannon- og Simpsons diversitetsindekser samt Bifidobacterium- og Faecalibacterium-forekomsten. Der er også en forskel den præcise sammenhæng mellem sværhedsgrad og Bacteroides overflod.

Hvordan kan det påvirke klinisk praksis i den nærmeste fremtid?

ÿ Boosting af Bifidobacterium eller Faecalibacterium gennem probiotisk tilskud eller transplantation af fækal mikrobiota er værd at undersøge i behandlingen af patienter med akut alvorlig sygdom eller langvarig infektion. Hvis de ændringer, vi dokumenterer, går forud for SARS-CoV-2-infektion hos dem, der er hårdest ramt, kan denne terapeutiske tilgang være af særlig interesse. Omvendt, hvis reduktionen følger infektion, kan repopulation af tarmmikrobiomet reducere langsigtede virkninger relateret til ændringer i tarmmikrobiomets sammensætning ved SARS-CoV-2-infektion.

INDLEDNING

Forekomsten af *Bifidobacterium* falder med stigende alder og kropsmasseindeks (BMI)1, og *Bifidobacterium* er den aktive ingrediens i mange probiotika. In vitro-studier har vist fordelene ved disse

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Machine Translated by Google

Gram-positive bakterier inkluderer forbedret ATP-produktion, immunmodulering og -kompetence,2-8 slimhindebarriereintegritet, begrænsning af bakteriel adhærens til og invasion af tarmepitelet og modulering af centralnervesystemets aktivitet.9 *terium* har antiinflammatoriske egenskaber: [10] Derudover *Bifidobac-* *Bifidobacterium animalis, B. longum* og *B. bifidum* mindsker funktionen af 'master switch'2 proinflammatorisk tumornekrosefaktor-ÿ (TNF-ÿ), øger det antiinflammatoriske cytokin IL-10 og fremmer Th1, samtidig med at de hæmmer Th2-immunresponset.8 I en musemodel af inflammatorisk tarmsygdom (IBD) reducerede *B. bifidum* og *B. animalis* proinflammatoriske cytokiner og gendannede tarmbarriereintegriteten.8

Med hensyn til SARS-CoV-2-infektion er der immunologisk koordinering mellem tarm og lunger.11-13
Talrige undersøgelser har antydet, at et sundt tarmmikrobiom kan være forbundet med et fald i SARS-CoV-2-relateret dødelighed14 , og at probiotika bør overvejes til profylakse15 og/eller behandling af SARS-CoV-2 eller tilhørende sekundære infektioner.15-17

Men pr. februar 2022, på trods af offentliggørelsen af næsten 8000 studier om SARS-CoV-2-infektion, er der få igangværende studier (clinicaltrials.gov: NCT04443075 og NCT04486482) og kun fem publikationer til dato, der har undersøgt ændringer i tarmmikrobiomet i SARS-CoV-2-
inficerede patienter. Ikke desto mindre er der blevet foreslået en sammenhæng mellem tarmmikrobiomets status og resultatet af denne infektion. Følgelig var øgede forekomster af slægterne *Streptococcus, Rothia, Veilonella* og *Actinomyces* forbundet med inflammation,18

hvorimod øgede forekomster af *Collinsella aerofaciens, Collinsella tanakaei, Streptococcus infantis* og *Morganella morganii* var forbundet med fæcesprøver med høj SARS-CoV-2-infektionsevne,19 og øget *Lachnospira-*
ceae- og *Enterobacteriaceae* -forekomsten var forbundet med øget dødelighed og behov for kunstig ventilation.19 Arter, der potentielt beskytter mod SARS-CoV-2-infektion, omfatter *Parabacteroides merdae, Bacteroides stero-*
coris, Alistipes onderdonkii, Lachnospiracea-bakterie19 og samtidig *F. prausnitzii,* [19 20] sårbarhed over for infektion og øget sværhedsgrad var forbundet med nedsat forekomst af *B.bifidum.* [20 21] En nylig undersøgelse korrelerede aspekter af tarmmikrobiomet med 'Long-COVID', herunder reducerede niveauer af *F. prausnitzii* ved indlæggelse.22 Kort sagt er der stadig et presserende behov for at belyse ændringer i det menneskelige tarmmikrobiom på grund af SARS-CoV-2 og deres forhold til kliniske resultater.

Både det videnskabelige samfund og den almindelige offentlighed er i stigende grad interesserede i probiotikas terapeutiske potentiale. Bifidobakterier har potentiale til at forbedre kliniske tilstande lige fra IBD23 til *Clostridioides difficile.*
infektioner.23–26 Behandling med specifikke stammer af *Bifido-bakterier in vitro* har vist sig at reducere toksiner fra *C. difficile* .25 In vivo kan *Bifidobacterium* genoprette tarmintegriteten,27 og *B. longum* administreret intranasalt til mus før eksponering for influenza er blevet forbundet med reduktion i dødelighed.4 I betragtning af at *Bifidobacterium* er en almindelig bestanddel af adskillige probiotiske produkter og synes at være forbundet med SAR-CoV-2-infektioner, kan man spørge, om probiotika kan spille en rolle i SARS-CoV-2-behandling eller -forebyggelse.

Heri evaluerer vi forholdet mellem tarmmikrobiomets diversitet og sammensætning sammenlignet med kliniske resultater i tværsnitsgrupper af SARS-CoV-2 PCR-bekræftede positive patienter (fra asymptomatiske til svært symptomatiske) versus SARS-CoV-2 PCR-bekræftede negative kontrolpersoner. Vores kontrolpersoner er SARS-CoV-2-eksponerede personer, der forblev PCR-negative og asymptomatiske. Kontrolpersonerne havde sandsynligvis lignende viruseksponeringer, men syntes beskyttet mod infektion, og vores data tyder på, at en vis beskyttelse kan ligge i mikrobiomet.

METODER

Studiedesign og patienter

Personer, der blev testet for SARS-CoV-2-infektion enten fordi de var symptomatiske eller havde været udsat for et 'tilfælde', var berettigede til optagelse ugen efter testningen, hvis enten de selv eller et medlem af husstanden var positive. Kontrolpersoner, der var berettigede til optagelse, var PCR-negative for SARS-CoV-2, forblev antistofnegative i 3-6 måneder og asymptomatiske i 6-12 måneder. Derudover skulle kontrolpersonerne enten dele husstand med mindst én symptomatisk SARS-CoV-2-positiv person eller være en sundhedsperson, der gentagne gange havde været udsat for symptomatiske SARS-CoV-2-positive patienter eller adskillige SARS-CoV-2-positive prøver. Alle udsatte kontrolpersoner var personer, der på trods af eksponering for SARS-CoV-2 valgte ikke at gå i karantæne eller tage profylakse mod SARS-CoV-2-infektion, og ingen var endnu blevet vaccineret. Patienterne bar ikke personlige værnemidler (PPE) i deres hjem, og personalet bar ikke *komplette* PPE (dvs. bar ikke masker) på kontoret på grund af mangel på det under denne globale pandemi. Patienter, der gennemgik behandling med total parenteral ernæring, eller patienter med en historie med betydelig gastrointestinal kirurgi (f.eks. fedmekirurgi, total kolektomi med ileorektal anastomose, proktokolektomi, postoperativ stomi, stomi eller ileoanal pouch) blev ekskluderet.

Dette studie blev udført mellem 1. marts 2020 og 31. oktober 2021, hvor alle undtagen én forsøgsperson blev rekrutteret før 1. juni 2021. I den periode dominerede alfa- og epsilon-varianterne i USA.28

Vurderinger

Et selvudfyldt spørgeskema indhentede oplysninger om symptomernes sværhedsgrad, tidligere sygehistorie, nuværende brug af medicin og probiotika samt eksponering for rekreative stoffer eller dyr. Patienter med SARS-CoV-2-infektion blev yderligere klassificeret som enten asymptomatiske bærere eller med milde, moderate eller svære symptomer i henhold til National Institutes of Health, Clinical Spectrum of SARS-CoV-2 Infection kriterier.29 30 Asymptomatiske PCR-bekræftede SARS-CoV-2-positive husstandsmedlemmer af

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Machine Translated by Google

Patienter inficeret med SARS-CoV-2 blev kategoriseret som asymptomatiske bærere. Patienter og kontrolpersoner blev klassificeret som undervægtige, normalvægtige, overvægtige, fede eller svært fede baseret på BMI-kriterier fra Center for Disease Control and Prevention.31

Indsamling og behandling af afføringsprøver

Patienter og kontrolpersoner i samme husstand indsamlede afføringsprøver inden for en uge efter, at indekstilfældet var positivt. Patienterne fik indsamlet afføringsprøver ved baseline, før enhver behandling og inden for 48 timer efter symptomdebut. Ingen forsøgspersoner var blevet påbegyndt antibiotika, SARS-CoV-2-infektionsbehandlinger, håndkøbsmedicin (f.eks. vitaminer, febernedsættende midler, smertestillende midler) eller supplerende ilt mellem tidspunktet for symptomdebut eller påvisning af PCR-positivitet og afføringsopsamling. Forsøgspersonerne blev instrueret (og oplært i proceduren og de sterile metoder) i at indsamle 1 ml frisk afføring og placere den direkte i et DNA/RNA Shield Fecal Collection Tube (Zymo Research, Tustin, Californien) og derefter blande prøven grundigt. Her er 1 ml afføring mere end tilstrækkeligt til at opfange tarmens mikroflora præcist og ensartet. Denne metode er valgt for at eliminere behovet for blanding og alikvotering af hele afføringen. Opløsningen i Fecal Collection Tube er designet til at opbevare prøver ved stuetemperatur (4 °C-25 °C) i > 2 år eller under -20 °C på ubestemt tid.

Da prøverne nåede vores laboratorium, blev de straks nedfrosset ved -20 °C.

Efter fækal opsamling blev hver enkelt prøve-DNA ekstraheret og oprenset med Qiagen Power-Fecal Pro DNA-ekstraktionskittet. Det isolerede DNA blev derefter kvantificeret ved hjælp af Quantus Fluorometer med QuantFluor ONE dsDNA-kittet. Efter DNA-kvantificering blev DNA'et normaliseret, dvs. alle prøver begynder biblioteksforberedelse (efter DNA-ekstraktion og oprensning) med 100 ng input-DNA. Biblioteker blev derefter forberedt ved hjælp af shotgun-metodologi med Illuminas Nextera Flex-kit. Prøverne gennemgik derefter shotgun-metagenomiske behandlingsprocedure med tagmentering, amplifikation, indeksering og oprensning. Efter afslutningen af denne shotgun-metagenomiske standardprotokol blev de oprensede biblioteker igen normaliseret for at standardisere sekventeringsdybden under næste generations sekventeringskørsel (NGS) på NextSeq 500/550. Vi opnåede ensartethed i sekventeringsdybden (dvs. antal aflæsninger) ved at normalisere prøvernes poolingkoncentrationer (dvs. molaritet), indlæse det samme antal prøver pr. sekventeringskørsel og konsekvent bruge de samme NextSeq High Output-kits.

Efter afslutning af sekventeringen på Illumina NextSeq med 500/550 High-Output Kits V.2.5 (300 cyklusser), blev rådataene streamet i realtid til Illuminas BaseSpace-cloud til FASTQ-konvertering (Fast Quality, en standard tekstfiltype til lagring af biologisk sekvensinformation). FASTQ-filerne blev derefter sendt gennem One Codex' bioinformatiske pipeline til metagenomisk annotering og analyser for at belyse mikrofloraen.

sammensætning og relative forekomster af de vigtigste slægter og arter for alle patienter og kontrolgrupper.

Dataanalyse

Vi vurderede forskelle i relativ forekomst på tværs af taxa mellem tarmmikrobiomet hos SARS-CoV-2-inficerede patienter og eksponerede kontrolpersoner og beregnede Shannon og Simpsons alfa-diversitetsindekser med One Codex's bioinformatiske analysepipeline ved hjælp af Jupyter Notebook i Python. Specifikt består One Codex-databasen af ~114K komplette mikrobielle genomer (One Codex, San Francisco, Californien). Under behandlingen blev aflæsningerne først screenet mod det humane genom og derefter kortlagt til den mikrobielle referencedatabase ved hjælp af en k-mer-baseret klassificering. Individuelle sekvenser (NGS-aflæsning eller contig) blev sammenlignet med One Codex-databasen (One Codex) ved nøjagtig tilpasning ved hjælp af k-merer, hvor k=31.

Baseret på den relative frekvens blev unikke k-merer filtreret for at kontrollere for sekventering eller referencegenom artefakter.

Sekventeringsdybden fulgte ProgenaBiomes standardprocedurer og var i gennemsnit 8239475 aflæsninger for dette studie. Det skal bemærkes, at overfladisk metagenomisk sekventering typisk kun er 0,5 millioner aflæsninger, men stadig anses for tilstrækkelig til taksonomisk phyla-niveauanalyse (og endda slægter for de mest talrige bakterier).

Den relative forekomst af hver mikrobiel taksonomisk klassifikation blev estimeret baseret på dybden og dækningen af sekventering på tværs af alle tilgængelige referencegenomer. Beta-diversitet blev beregnet som vægtet UniFrac-afstand visualiseret i en afstandsmatrix ved hjælp af den relative forekomst på rækkeniveau opnået fra One Codex. Tretten slægter blev udvalgt baseret på vores erfaring og viden om kritiske aktører i tarmmikrobiomet samt lighed med andre studier18 20 29

For at sammenligne patienter på tværs af undergrupper og patienter med eksponerede kontrolpersoner blev der udført variationsanalyse (ANOVA), Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis test og ÿ² teststatistik ved hjælp af GraphPad V.8 med p-værdier <0,05 betragtet som signifikante. Dunns *post-hoc* blev anvendt til Kruskal-Wallis test med korrektion for multiple sammenligninger i alle situationer.

Alle forfattere havde adgang til studiedata og har gennemgået og godkendt det endelige manuskript.

RESULTATER

Patientkarakteristika

Demografiske og kliniske karakteristika for patienter (n=50) og eksponerede kontrolpersoner (n=20) er præsenteret i online supplerende tabeller 1 og 2 og opsummeret i tabel 1. Alle patienter var bosiddende i USA, med stater angivet i online supplerende tabel 1. Fireogtyve ud af 50 (48%) patienter og 7 ud af 20 (35%) af de eksponerede kontrolpersoner var mænd. Gennemsnitsalderen ± SEM i år var 50,0 ± 2,5 for patienter og 44,4 ± 3,6 for eksponerede kontrolpersoner. Fireogfyrre ud af 50 (88%) patienter var ikke-spansktalende hvide; 5 ud af 50

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Tabel [illegible] karakteristika for deltagerne

	SARS-CoV-2- (n=20)	SARS-CoV-2 Asymptomatisk (n=4)	Mild (n=6)	Moderat (n=12)	Alvorlig (n=28)	Total (n=50)	P-
Demografi							
bosiddende		[illegible] (75,00%)	[illegible] (33,33%)		[illegible] (50,00%)	[illegible] (00,00%)	ns
Han	[illegible] (50,00%)			[illegible] (66,66%)			0,5706
Gennemsnitsalder ±SEM	44,40±3,62	47,50±9,40	37,67±4,65	50,58±5,92	52,82±3,33	50,00±2,50	0,5221
Medianalder	48	50,5	37	60	55,5	53	
Race							
Hvid		[illegible] (25,00%)	[illegible]	[illegible] (25,00%)		[illegible] (88,00%)	0,3826
Latinamerikansk	[illegible]				[illegible]	5 (10,00%)	
Sort						0 (0,00%)	
Andre						1 (2,00%)	
Kliniske/							
COVID-19 komorbiditeter*	[illegible] (60,00%)	3 (75,00%)	3 (50,00%)	[illegible] (83,33%)	[illegible] (57,14%)	[illegible] (64,00%)	0,5099
[illegible] frekvens	20 (100,00%)	4 (100,00%)	6 (100,00%)	[illegible] (83,33%)	[illegible] (85,71%)	[illegible] (88,00%)	0,2891
[illegible]	[illegible] (100,00%)	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0,6663
Omnivore							ns

[illegible] frekvens [illegible] en), [illegible] forsøgspersoner

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

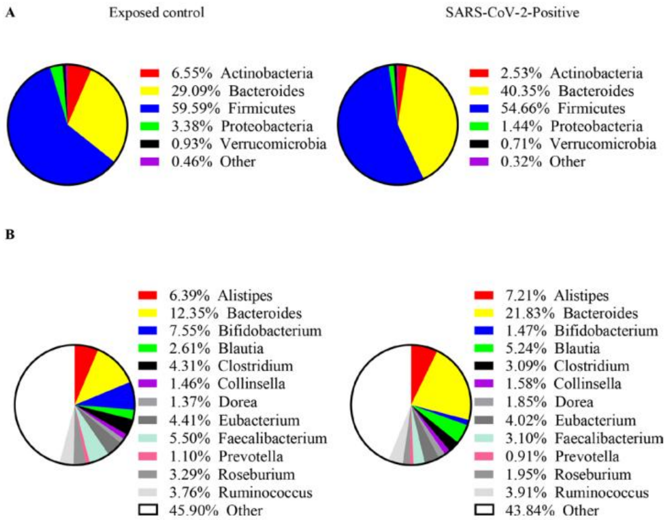
Machine Translated by Google

(10%) var latinamerikanere, og 1 ud af 50 (2%), indfødte amerikanere og 17 ud af 20 (85,0%) af de eksponerede kontrolpersoner var ikke-latinamerikanske, hvide; 2 ud af 20 (10,0%), latinamerikanere og 1 ud af 20 (5,0%), sorte. Af patienterne havde 28 ud af 50 (56%) svær sygdom, 12 ud af 50 (24%) moderat sygdom, og 6 ud af 50 (12%) havde mild sygdom, og 4 ud af 50 (8%) var asymptomatiske. 32 ud af 50 (64%) patienter og 12 ud af 20 (60,0%) eksponerede kontrolpersoner havde underliggende komorbiditeter, som Center for Disease Control (CDC) betragter som risikofaktorer for øget sværhedsgrad af SARS-CoV-2-infektion.1 Gennemsnitsværdien ± SEMBMI for de 46 patienter med tilgængelige data var 27,1 ± 0,98 sammenlignet med 25,1 ± 0,96 for de 20 eksponerede kontrolpersoner. Der var ingen signifikant forskel (p>0,2) i køn, alder, racemæssig demografi, appetitløshed, ændring i afføringshyppighed, kost eller tilstedeværelse af underliggende komorbiditeter.

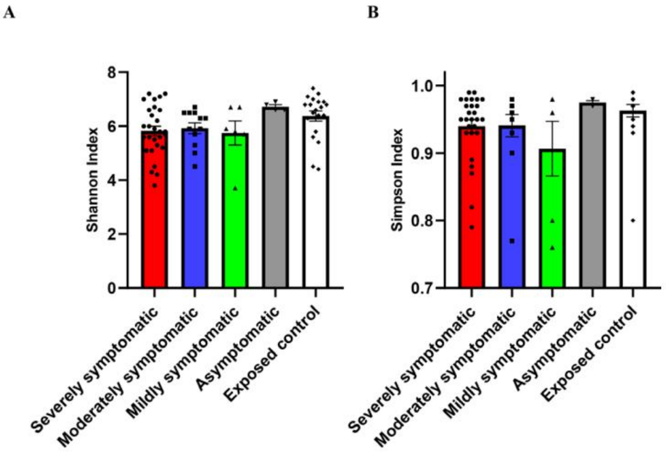
Af de eksponerede kontrolpersoner var 16 husstandskontakter til SARS-CoV-2-positive patienter i studiet, 2 var sundhedspersonale med omfattende, ubeskyttet eksponering for SARS-CoV-2-positive patienter, og 2 var laboratoriepersonale eksponeret for tusindvis af SARS-CoV-2-prøver (sundhedspersonale og laboratoriepersonale bar ikke fuldt personligt beskyttelsesudstyr, dvs. bar ikke ansigtsmaske på grund af dens knaphed; se afsnittet om metoder). I løbet af studiets tidsramme var ingen af patienterne eller kontrolpersonerne i SARS-CoV-2-profylakse eller -behandling, og ingen var endnu blevet vaccineret. Ingen patienter eller eksponeret kontrolperson var positive for SARS-CoV-2 før studiet.

Tarmmikrobiomets diversitet og sammensætning

Figur 1 viser cirkeldiagrammer over sammensætningen af tarmmikrobiomet for den eksponerede kontrolgruppe på rækkeniveau (figur 1A) og slægtsniveau (figur 1B). På rækkeniveau dominerede *Firmicutes* og *Bacteroides* , der udgjorde henholdsvis 59,6 % (eksponeret kontrolgruppe) og 54,7 % (SARS-CoV-2-positiv) og 29,1 % (eksponeret kontrolgruppe) og 40,4 % (SARS-CoV-2-positiv) af alle rækker. På slægtsniveau bidrog *Bacteroides* med 12,4 % (eksponeret kontrolgruppe) og 21,8 % (SARS-CoV-2-positiv), *Alistipes med* 6,4 % (eksponeret kontrolgruppe).



Figur 1 Fordeling af bakteriel relativ forekomst i forskellige (A) flya- og (B) slægter for eksponerede kontrolpersoner (n=20, venstre) og SARS-CoV-2-positive personer (n=50, højre).



Figur 2 Diversitet i tarmmikrobiomets sammensætning hos SARS-CoV-2-positive patienter (svært symptomatiske: n=28; moderat symptomatiske: n=12; let symptomatiske: n=6; asymptomatiske: n=4) versus eksponerede kontrolpersoner (n=20). (A) Shannon-indeks (p=0,0499), (B) Simpson-indeks (p=0,0581). Forskelle mellem svært symptomatiske positive og eksponerede negative kontrolpersoner blev analyseret via Kruskal-Wallis test Dunns post-hoc, korrigerende for multiple sammenligninger, hvilket viste signifikant for Shannon-indekset ved p=0,0201.

og 7,2 % (SARS-CoV-2-positive) og *Bifidobacterium* 7,6 % (eksponeret kontrol) og 1,5 % (SARS-Cov-2-positive).

Figur 2 viser to diversitetsindekser for alle undersøgte undergrupper, nemlig Shannon-diversitet (figur 2A) og Simpson-diversitetsindekset (figur 2B). Den samlede p-værdi for Shannon-indekset (bakteriel sammensætnings rigdom) viste et signifikant (p=0,0499) fald i diversitet med øget sværhedsgrad, og der blev observeret signifikans for eksponeret kontrol versus svært symptomatisk (p=0,0201), analyseret via Kruskal-Wallis-testen. Simpson-indeksene (jævnhed i bakteriesammensætning) viste en tendens (p=0,0581) til et fald i diversitet med øget SARS-CoV-2-sværhedsgrad.

Yderligere metagenomisk analyse, der sammenlignede SARS-CoV-2-patienter og kontrolpersoner, afslørede signifikante forskelle i den relative forekomst af specifikke bakterier. Den relative forekomst af SARS-CoV-2-positive (eksponerede kontrolpersoner) versus negative forsøgspersoner er vist i tabel 2 sammen med sammenlignende p-værdier via Mann-Whitney U-testen.
Patienter med SARS-CoV-2-infektion viste en signifikant nedsat relativ forekomst af *Bifidobacterium* og *Faecalibacterium* og en signifikant øget relativ forekomst af *Bacteroides* (tabel 2).

Tabel 3 viser de relative forekomster (gennemsnit ± SEM) for slægter/arter for forskellige sværhedsgrader af SARS-CoV-2-positive patienter versus eksponeret kontrolgruppe. Analyseret via Kruskal-Wallis-testen er hovedeffekten (dvs. samlet p-værdi) af disse ændringer vist i venstre kolonne. Tabel 3
fortsætter med at sammenligne, korrigerende for multiple sammenligninger, de tre sværhedsgrader hos inficerede patienter versus eksponerede kontrol- og asymptomatiske grupper. Specifikt var øget sygdomssværhedsgrad forbundet med nedsat relativ forekomst af *Bifidobacterium, Faecalibacterium, F.*

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Machine Translated by Google

Tabel 2 Relativ forekomst af Bacteroides stiger og forekomst af Bifidobacterium, Faecalibacterium og Roseburium falder i SARS-CoV-2-positive forsøgspersoner versus SARS-CoV-2-negative eksponerede kontrolpersoner

	Relativ forekomst (gennemsnit ± SEM)		
Slægt (±art)	**Eksponerede kontroller**	**SARS-CoV-2 positiv**	**P-værdi**
Alistipes	0,0639±0,0095	0,0721±0,0100	0,8709
Bakteroides	0,1235±0,0178	0,2183±0,0191	**0,0025**
Bifidobakterie	0,0755±0,0219	0,0147±0,0051	**<0,0001**
Blautia	0,0261±0,0040	0,0524±0,0088	0,1349
Clostridium	0,0431±0,0075	0,0309±0,0039	0,9948
Collinsella	0,0146 ± 0,0045	0,0158±0,0029	0,9948
Dorea	0,0137±0,0024	0,0185 ± 0,0022	0,2777
Eubakterie	0,0441±0,0063	0,0402±0,0043	0,4786
Faecalibacterium	0,0550 ± 0,0086	0,0310 ± 0,0039	**0,0137**
F. prausnitzii	0,0542±0,0085	0,0313±0,0039	**0,0153**
Prevotella	0,0110 ± 0,0086	0,0091±0,0066	0,6538
Rosenburium	0,0329±0,0056	0,0195 ± 0,0032	**0,0097**
Ruminococcus	0,0376±0,0079	0,0391±0,0056	0,9844

Middelværdi ± SEM relative forekomster, såvel som p-værdi via Mann-Whitney U-test, er angivet med fed markering som p < 0,05.

prausnitizii og *Roseburium,* sammen med en øget relativ forekomst af *Bacteroides.*

Figur 3 viser de 12 mest udbredte familier og de 12 mest udbredte slægter for patienter, stratificeret efter sygdommens sværhedsgrad og i sammenligning med eksponerede kontrolpersoner. Søjlerne, der er kendetegnet ved farve, repræsenterer den relative procentdel af bakteriefamilier og slægter. Bemærk den reducerede diversitet i mikrobiomet hos SARS-CoV-2-positive patienter vist i kolonne B.

Figur 4 opsummerer ændringerne i mikrobiomet i henhold til SARS-CoV-2-positivitet og -sværhedsgrad, hvor grønne bokse viser signifikant forhøjelse, og røde bokse indikerer signifikant reduktion i slægter/arters forekomst forbundet med SARS-CoV-2.

Figur 5A og B viser den relative forekomst af *Bifidobac-terium* for hver forsøgsperson, grupperet efter sværhedsgraden af SARS-CoV-2-infektionen. Dette diagram, med forsøgspersoner sorteret efter sværhedsgrad (fra svær til venstre til eksponerede kontrolpersoner til højre), viser, hvordan forekomsten *af Bifidobacterium* stiger, når sværhedsgraden falder.

Analyse af forsøgspersonernes beta-diversitet viste, at kontrolpersonernes diversitet grupperes adskilt fra patienternes. Figur 6A viser den beta-diversitetsvægtede (kvantitative) UniFrac-analyse med phyla-bakterieprofiler for alle individer i studiet (n=70).

Figur 6A viser, at selvom der er en række forskelle, er SARS-CoV-2-negative individer mere ensartede end SARS-CoV-2-positive patienter. Matricen fremhæver også klynger af lighed blandt SARS-CoV-2-positive patienter og mørkere kvadranter af forskelle, hvor positive og negative patienter krydser hinanden. På et mere detaljeret niveau ses figur 6B.

anvendte principal component (PC) analyse af slægter, hvor akserne viser procentdelen af variansen. I PC-analyse er punkter tættere på hinanden mere ens (mindre divergens

(med aksen repræsenterer divergensretninger). Her tegner PC1 sig for 43,16 % af variationen, mens PC2 tegner sig for 12,78 %. Denne analyse afslører en klar divergens af en delmængde af SARS-CoV-2-positive patienter, der grupperer sig på højre side langs x-aksen (PC1), hvilket fremhæver mikrobiota-divergens som en funktion af sygdommen. Figur 6 viser således, at eksponerede kontrolpersoner grupperer sig ens separat fra SARS-CoV-2-patienter; det vil sige, at patienterne ligner hinanden mere end kontrolpersonerne med hensyn til deres mikrobiom.

DISKUSSION

Immunfunktion og sundhed kan forbedres af bakteriel overflod

Interaktioner mellem værten og tarmfloraen er komplekse, talrige og tovejs. Tarmfloraen regulerer udviklingen og funktionen af det medfødte og adaptive immunsystem,32 hvilket potentielt giver dem mulighed for at beskytte mod infektioner og infektionssværhedsgrad. De primære resultater af vores undersøgelse er, at SARS-CoV-2-positivitet og infektionssværhedsgrad er forbundet med nedsatte niveauer af de beskyttende *Bifidobacterium* og *Faecalibacterium.*

slægter og med nedsat bakteriediversitet, som eksemplificeret ved Shannon- og Simpson-indekserne. Dette stemmer overens med studier, der viser, at bakteriediversitet er omvendt relateret til tilstedeværelsen af forskellige almindelige lidelser.33 Unikt nok sammenlignede vores undersøgelse SARS-CoV-2-eksponerede SARS-CoV-2-negative personer (dvs. kontrolpersoner) med symptomatiske og asymptomatiske SARS-CoV-2-positive patienter. Vi kontrollerede således for SARS-CoV-2-eksponering.

Slægten *Bifidobacterium* har vigtige immunfunktioner,8 er en vigtig del af mikrobiomet og bruges ofte i probiotika.34 Bifidobacterium øger Treg-responser og reducerer celleskader ved at hæmme

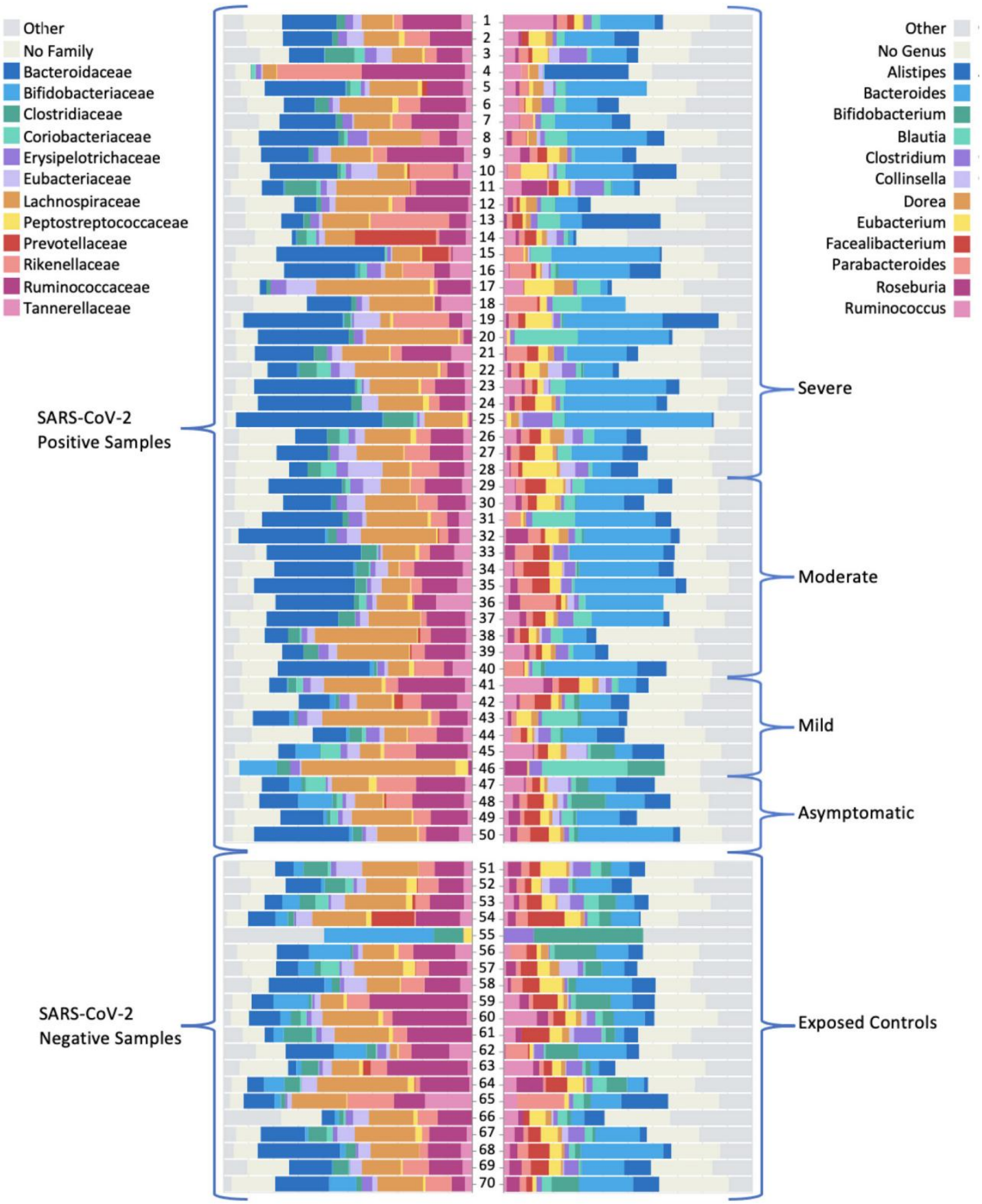
BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Slægt (art)	Eksponeret	Asymptomatisk	Mild	Moderat	Alvorlig	Relativ Hovedeffekt
Alistipes	0,0639±0,0095	0,0901±0,0272	0,0664±0,0196	0,0580	0,0793±0,0166	0,8119
[illegible]	0,1235±0,0178	0,2058±0,0606	0,0912±0,0226	0,2849±0,0305	0,2187±0,0272	**0,0075**
[illegible]	0,0755±0,0219	0,0840±0,0308	0,0507±0,0244	0,0037±0,0015	0,0018±0,0006	**<0,0001**
[illegible]	0,0261±0,0040	0,0267	0,1037±0,0510	0,0420	0,0495±0,0095	0,2098
[illegible]	0,0431±0,0075	0,0145±0,0025	0,0265	0,0334±0,0055	0,0331±0,0062	0,2721
[illegible]	0,0045	0,0334±0,0174	0,0203±0,0126	0,0107±0,0038	0,0145±0,0035	0,7476
[illegible]	0,0137±0,0024	0,0152±0,0015	0,0174±0,0046	0,0026	0,0218±0,0035	0,4820
[illegible]	0,0441±0,0063	0,0332±0,0058	0,0365	0,0367±0,0064	0,0430	0,9619
[illegible]	0,0580	0,0597+0,0098	0,0359±0,0139	0,0428+0,0093	0,0209+0,0037	**0,0070**
[illegible]	0,0542±0,0085	0,0589±0,0095	0,0356	0,0417±0,0092	0,0240	**0,0054**
[illegible]	0,0080	0,0023±0,0020	0,0050	0,0000±0,0000	0,0149±0,0118	0,1687
[illegible]	0,0329±0,0056	0,0274±0,0081	0,0268±0,0138	0,0245±0,0075	0,0036	**0,0327**
Ruminococcus	0,0376±0,0079	0,0394±0,0139	0,0250	0,0293±0,0073	0,0384±0,0076	0,8033

Slægt (art)	P- Mild	Moderat	Alvorlig	Asymptomatisk	P- Mild	Moderat	Alvorlig
Alistipes	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999
[illegible]	>0,9999	**0,0078**	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999
[illegible]	>0,9999	**0,0006**	**0,0026**	>0,9999	>0,9999	**0,0006**	**<0,0001**
[illegible]	0,4116	>0,9999	0,6373	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999
[illegible]	>0,9999	>0,9999	>0,9999	0,4944	>0,9999	0,9841	>0,9999
[illegible]	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999
[illegible]	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999
[illegible]	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999
[illegible]	>0,9999	>0,9999	**0,0082**	>0,9999	>0,9999	>0,9999	0,1422
[illegible]	>0,9999	>0,9999	**0,0109**	>0,9999	>0,9999	>0,9999	0,1568
[illegible]	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	0,8916	>0,9999
[illegible]	>0,9999	>0,9999	**0,0196**	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999
Ruminococcus	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999	>0,9999

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Machine Translated by Google



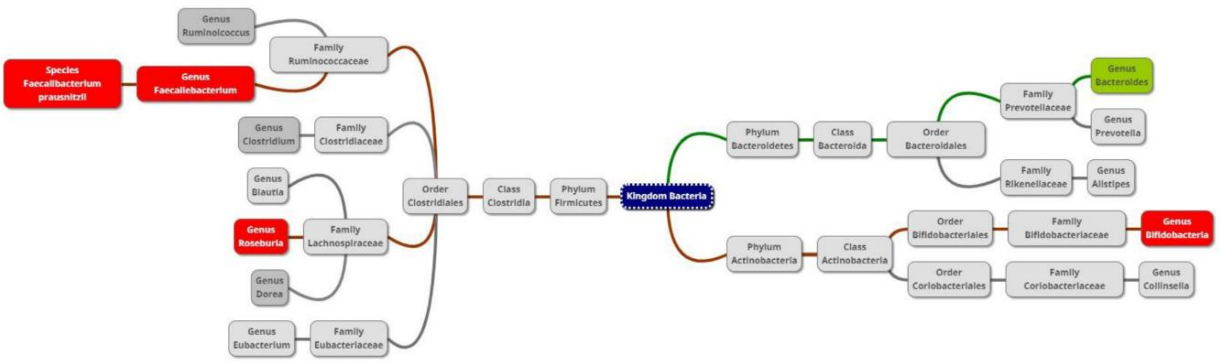
Figur 3. Grafik over den relative forekomst af de 12 mest almindelige (A) familier og (B) slægter. Den øverste gruppe repræsenterer de SARS-CoV-2-positive prøver (n=50), stratificeret efter sværhedsgrad. Den nederste gruppe repræsenterer de eksponerede kontrolprøver (n=20). De farvede bokse repræsenterer den del af hele rektanglet, der er bestående af den givne bakteriefamilie/slægt.

TNF-ÿ og makrofager.35 *Bifidobacterium* beskytter også mod skader på tarmepitelceller uafhængigt af deres virkninger på TNF-ÿ-produktion. Exopolysaccharid-kappen, som er et træk ved nogle *Bifidobacterium,* spiller en betydelig rolle i denne beskyttende effekt.36 Disse immunfunktioner hos *Bifidobacterium* kan være kritiske i forhold til dens SARS-CoV-2-infektionsforebyggende virkninger.

Der er akkumuleret beviser, der understøtter en gavnlig effekt af tilskud med *Bifidobacterium* i adskillige sygdomstilstande.37 Antallet af kommensale *Bifidobacterium* har vist sig at falde med alder og fedme, vigtige risikofaktorer for SARS-CoV-2-infektion. Vi viser, at patienter med et mere alvorligt forløb af virusinfektion havde nedsat forekomst af *Bifidobacterium.* Det skal dog bemærkes, at der ikke findes definitive undersøgelser af, hvad der udgør en normal baseline-forekomst af *Bifidobacterium* hos et 'rask' individ.

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

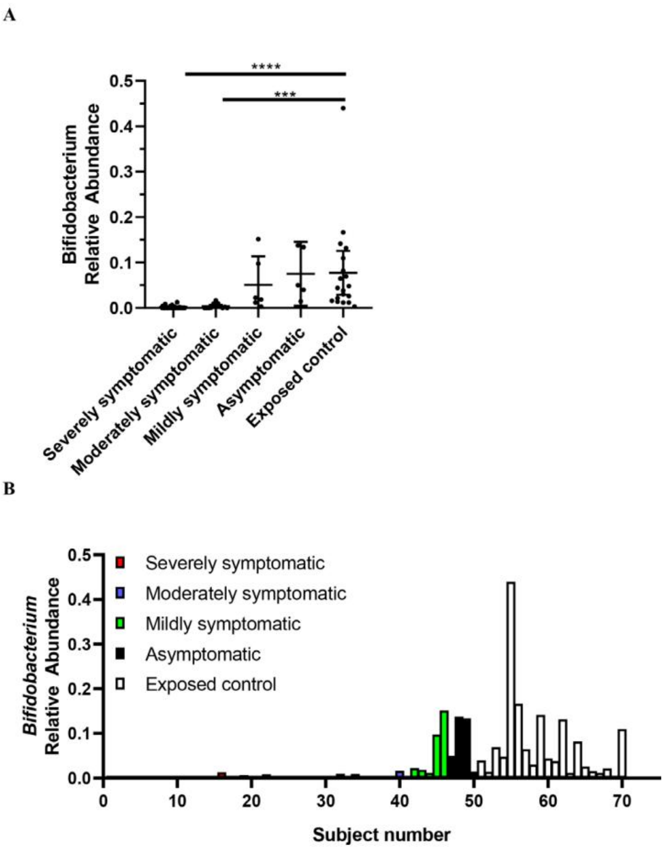
Machine Translated by Google



Figur 4 Diagram over taxa, der sammenligner tarmmikrobiomet hos SARS-CoV-2-patienter og eksponerede kontrolpersoner. Rød eller grøn baggrund indikerer en signifikant reduktion eller stigning (på grund af positivitet eller sværhedsgrad) af slægten eller arten hos SARS-CoV-2-positive forsøgspersoner.

Forekomsten af *Faecalibacterium* -slægten og *F. praus-nitzii* -arter var også omvendt relateret til SARS-CoV-2-positivitet og SARS-CoV-2-infektionssværhedsgraden i denne analyse. Alder og diabetes er risikofaktorer for SARS-CoV-2-infektion, og niveauet *af F. prausnitzii* falder markant hos ældre og diabetiske befolkningsgrupper.37 Faktisk er *Faecalibacterium* niveauer er blevet betragtet som en indirekte 'indikator' for generelle menneskers sundhed.38 Forekomsten af *F. prausnitzii* reduceres af den 'vestlige' kost (forbrug af mere kød, animalsk fedt, sukker, forarbejdede fødevarer og lavt fiberindhold), mens det forstærkes af den fiberrige 'middelhavskost' med grøntsager og frugter og lavt kødindtag.39 Foreløbige undersøgelser viste, at reduceret indtag af en middelhavskost i samme land er forbundet med øget SARS-CoV-2-relateret død rater.40 Kort sagt viser vi, at *F. prausnitzii* -niveauer korrelerede negativt med sværhedsgraden af SARS-CoV-2-infektion, og tidligere undersøgelser viser, at reduceret *F. prausnitzii* er forbundet med sårbarheder over for SARS-CoV-2-infektion, såsom alder, diabetes, fedme og muligvis kost.

SARS-CoV-2-positivitet og -sværhedsgrad var også forbundet med nedsat forekomst af *Roseburium* og øget forekomst af *Bacteroides.* Implikationerne af disse ændringer er fortsat uklare.



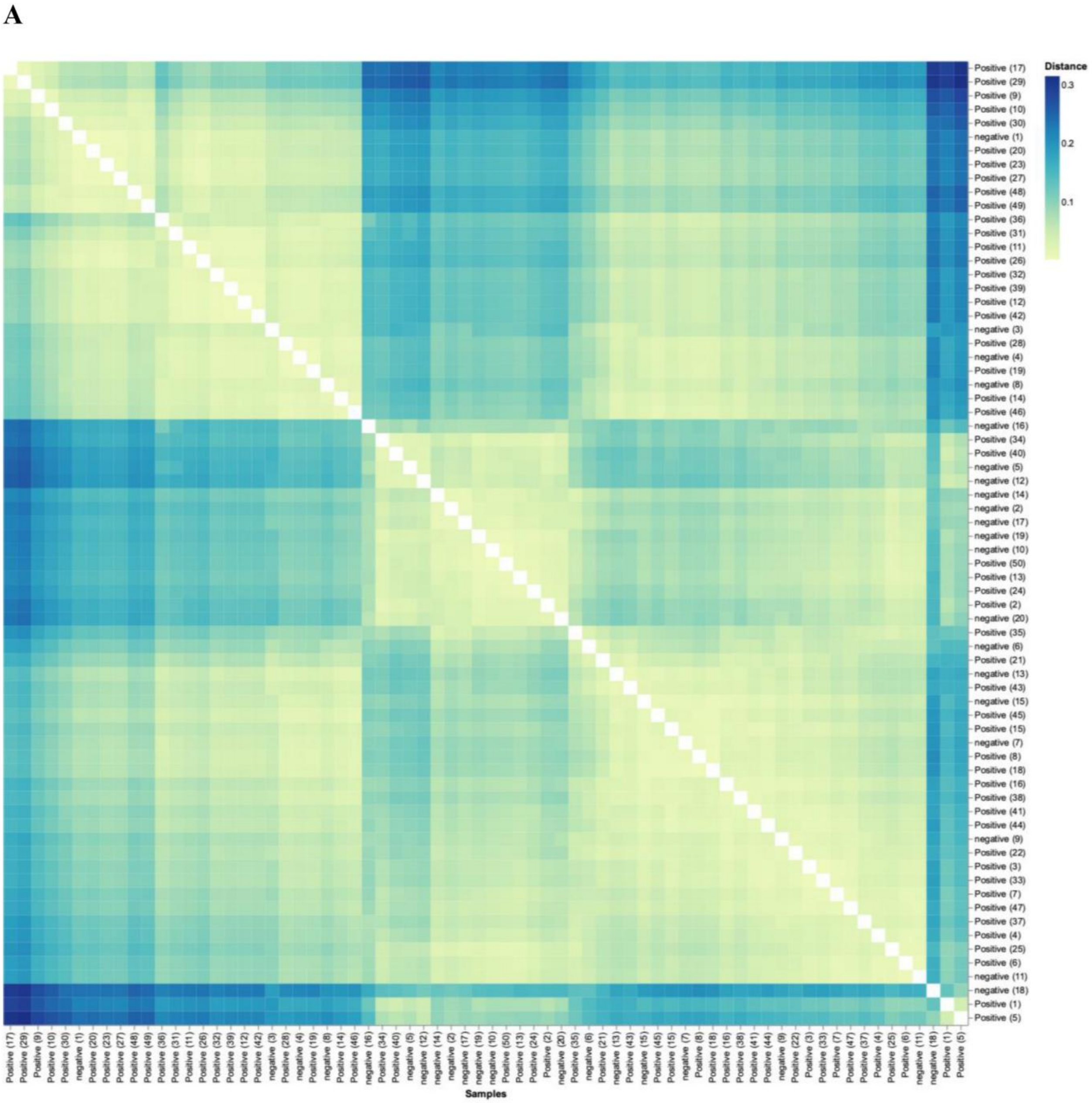
Figur 5 Relativ forekomst af Bifidobacterium hos SARS-CoV-2-positive patienter (n=50) versus SARS-CoV-2-negative eksponerede kontrolpersoner (n=20). Data er plottet som (A) gennemsnit med fejlsøjler for 95% CI og (B) individuelle punkter for relativ forekomst for varierende SARS-CoV-2-infektionssværhedsgrad.
Analyseret via Kruskal-Wallis test var der signifikante reduktioner i Bifidobacteriums relative forekomst for svært ($p < 0,0001$) og moderat ($p = 0,0002$) symptomatiske patienter. Forsøgspersoner 1-28 = svært symptomatiske; forsøgspersoner 29-40 = moderat symptomatiske; forsøgspersoner 41-46 = let symptomatiske forsøgspersoner; forsøgspersoner 47-50 = asymptomatiske; forsøgspersoner 51-70 = eksponeret kontrolgruppe. Figur A og B viser de samme data.

Medfødt immunitet kan forbedres ved et øget niveau af gavnlige bakterier

Den patologiske indvirkning af SARS-CoV-2-infektion omfatter både direkte effekter fra virusinvasion og komplekse immunologiske reaktioner, herunder i sin mest alvorlige form 'cytokinstormen'. Cytokinstormen er resultatet af en pludselig stigning i cirkulerende niveauer af proinflammatoriske cytokiner produceret af aktiverede makrofager, mastceller, endotelceller og epitelceller under medfødte immunresponser, som synes at være moduleret af mængden af *Bifidobacterium* og *Faecalibacterium* og bakteriel diversitet (5, 23, 25). Steroidbehandling har situationsmæssig succes ved SARS-CoV-2-infektion, baseret på at undertrykke denne overaktivering af det medfødte immunsystem, gennemgået af Tang *et* al.41

Zhao rapporterede, at forhøjede serumniveauer af proinflammatoriske cytokiner såsom IL-16 og IL-17 forudsiger dårlige prognoser hos patienter med SARS-CoV-2-infektion.42
Tao *et al.* viste også , at ændringer i tarmmikrobiotaens sammensætning kan bidrage til SARS-CoV-2-induceret

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.



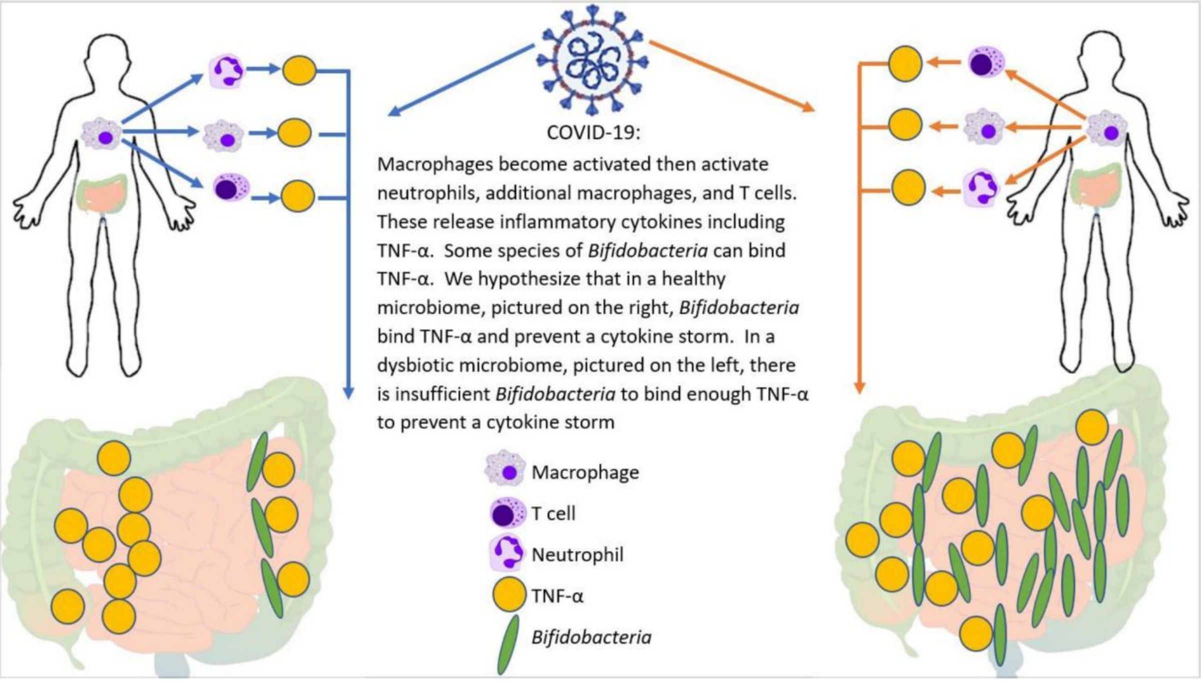
Figur 6. Mikrobiomet hos SARS-CoV-2-positive patienter ligner hinanden mere end hos eksponerede kontrolpersoner. (A) Vægtet UniFrac-afstandsmatrix af SARS-CoV-2-positive (n=50) og eksponerede negative kontrolprøver (n=20) på rækkeniveau. Afstanden mellem forskelle i mikrobiomet øges med stigende blå farveintensitet (se forklaring øverst til højre). Diagrammets midte består af negative subjekter på begge akser og er gul, hvilket indikerer mindre afstand (dvs. mindre forskel i mikrobiomet). Det centrale område i venstre såvel som det centrale øverste område af diagrammet består af negative forsøgspersoner på den ene akse og positive på den anden, og er mørkere blå, hvilket indikerer større afstand (større forskel i mikrobiomet). (B) Analyse af hovedkomponenter af mikrobiota fra SARS-CoV-2-positive (n=50) og eksponerede negative kontroller (n=20). Prikker tættere på hinanden ligner hinanden mere i mikrobiomets sammensætning. Akserne viser den procentvise varians forklaret af hovedkomponent (PC) 1 og 2. Plottene er baseret på relative forekomstprofiler af bakterieslægter.

produktion af inflammatoriske cytokiner i tarmen, hvilket kan føre til cytokinstorm.29 Begge forfattere rapporterer signifikant reduceret diversitet i tarmmikrobiotaen og øget opportunistisk patogen hos patienter med SARS-CoV-2. Interessant nok korrelerede opblomstringen af opportunistiske patogener positivt med antallet af Th17-celler. Bozkurt og Quigley rapporterede, at IL-6 og IL-17 fremmer viral persistens ved immuninteraktioner gennem cellulær autofagi via den inositol-krævende enzym 1-signalvej.[16] Derudover nogle arter af *Bifido-Bakterier* forhindrer sandsynligvis replikationen af coronavirus ved at reducere stress i det endoplasmatiske retikulum, også gennem den inositol-krævende enzym 1-vej.

Der er observeret reduceret forekomst *af Bifidobacterium* i tarmmikrobiomet hos patienter med IBD, hvilket har mekanismer, der involverer IL-17.31 Desuden har direkte endoskopisk levering af *Bifidobacterium* vist sig at være effektiv til at fremme symptomreduktion og

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Machine Translated by Google



Figur 7 Potentiel mekanisme for cytokinstorm og immunhyperrespons hos SARS-CoV-2-positive patienter. Hos personer inficeret med SARS-CoV-2 aktiveres makrofagerne; disse aktiverer til gengæld T-celler, yderligere makrofager og neutrofiler - som alle frigiver cytokiner, herunder TNF-ÿ. Bifidobacterium kan, når de er til stede i tilstrækkeligt antal, binde sig til TNF-ÿ og forhindre den efterfølgende cytokinstorm. Derfor mangler patienter med en bifidobakteriel dysbiose karakteriseret ved lave niveauer af Bifidobacterium denne forsvarslinje, hvilket kan føre til en cytokinstorm.

slimhindeheling ved IBD – en effekt, der sandsynligvis er forbundet med *Bifidobacteriums anti-Th17-effekt. (8)* Figur 7 demonstrerer, hvordan *Bifidobacterium* hypotetisk set kan dæmpe et forhøjet immunrespons ved at dæmpe effekten af hovedafbryderen TNF-ÿ.

KONKLUSIONER

I betragtning af vores tværsnitsstudiedesign er det ikke muligt at afgøre, om forskellene i *Bifidobacterium* Niveauer observeret mellem patienter og eksponerede kontrolpersoner gik forud for eller efter infektion. Hvis de gik forud for infektion, kan de være en markør for modtagelighed, og en forøgelse af *Bifidobacterium* -niveauer kan mindske risikoen for eller sværhedsgraden af SARS-CoV-2-infektion. Hvis disse ændringer fulgte efter infektion, kan ændring af tarmmikrobiomet (såsom gennem transplantation af fækal mikrobiota eller muligvis probiotisk tilskud) for at øge *Bifidobacterium* være et område, der er værd at undersøge for at forbedre resultaterne. Hvis fremtidige undersøgelser kan påvise forbedrede resultater, kan sådan behandling overvejes til komplekse tilfælde af SARS-CoV-2-infektion, såsom "langtransportører" og personer med alvorlig sygdom. Udvikling af udbrud i tæt lukkede samfund såsom plejehjem kan være en god ramme for at vurdere modtagelighed: fæcesprøver kan indsamles under udbruddet og udføres *post hoc.*

på 'tilfælde' og 'kontroller'. Fremtidige studier af individer med baseline præpandemiske mikrobiomdata ville være yderst værdifulde, selvom det stadig er dyrt at erhverve sådanne baseline præinfektionsmikrobiomdata.

Med manglen på data om tarmmikrobiomet før debut af SARS-CoV-2-infektion kan vi ikke helt udelukke sygdommens forstyrrende effekt på mikrobiomet. Ikke desto mindre eliminerede vi virkningerne af behandling på tarmmikrobiomet ved at tage prøver før administration af SARS-CoV-2-infektionsterapeutika af nogen art og inden for 48 timer efter symptomdebut. Specifikt fik ingen forsøgspersoner antibiotika, antivirale midler, antiinflammatoriske lægemidler, ilt eller andre terapeutiske midler mellem symptomdebut eller PCR-positivitet og afføringsprøvetagning. Vi bemærker også, at forekomsten af appetitændringer, ændringer i afføringshyppighed og gastrointestinale (GI) symptomer generelt ikke var signifikant forskellig mellem nogen af sværhedsgradsgrupperne eller kontrolgruppen (tabel 1), selvom de små stikprøvestørrelser for nogle grupper bør tages i betragtning ved evalueringen af denne statistik.

Variabiliteten i præsentationen af SARS-CoV-2-infektion korrelerer med bakteriesammensætningen og den samlede diversitet i tyktarmens mikrobiomer. De samme ændringer, som vi observerer på grund af SARS-CoV-2-infektion, nemlig reduceret *Bifidobacterium* og/eller *Faecalibacterium*- forekomst, er forbundet med risikofaktorer for SARS-CoV-2-infektion, herunder alderdom, fedme og diabetes.[9 37 39 43] Derfor bør diversiteten af kolonmikrobiomet og den relative forekomst af *Bifidobacterium* og *Faecalibacterium* undersøges som potentielle markører til at forudsige sværhedsgraden af SARS-CoV-2-infektion.

Sammenfattende viser vi i et studie af PCR-positive og PCR-negative SARS-CoV-2-eksponerede forsøgspersoner reduceret bakteriediversitet og reducerede niveauer af forskellige slægter/ arter er stærkt forbundet med både SARS-CoV-2

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Machine Translated by Google

positivitet og sværhedsgraden af SARS-CoV-2-infektion. Disse fund tyder på, at probiotisk tilskud eller transplantation af fækal mikrobiota bør undersøges som en potentiel terapeutisk mulighed for patienter med SARS-CoV-2. Derudover kan individuel evaluering af tyktarmsmikrobiomet forudsige sårbarhed over for udvikling af alvorlig SARS-CoV-2-infektion. Endelig antyder vores data et nyt område til undersøgelse: hvis det viser sig, at sværhedsgraden af SARS-CoV-2 er afhængig af mikrobiomet, kan hensyntagen til forskelle i mikrobiomet reducere variationen i resultaterne for SARS-CoV-2.

Forfattertilhørsforhold

[1]Ikke tilgængelig, ProgenaBiome LLC, Ventura, Californien, USA
[2]Afdeling for Gastroenterologi, Alta Bates Summit Medical Center, Berkeley, Californien, USA
[3]Gastroenterologisk Klinik, Istanbul Maltepe Universitet, Istanbul, Tyrkiet
[4]Ikke tilgængelig, Microbiome Research, Inc., Ventura, Californien, USA
[5]Medicinsk skrivning og biostatistik, North End Advisory, Smyrna, Georgia, USA
[6]Afdeling for Gastroenterologi og Hepatologi, The Methodist Hospital, Weill Cornell Medicinsk Fakultet, Houston, Texas, USA
[7]N/A, Center for Fordøjelsessygdomme, Five Dock, New South Wales, Australien

Taksigelser Sonya Dave, PhD (forfatter på publikationen) ydede medicinsk skriveassistance og blev finansieret af ProgenaBiome. Forfatterne takker alle klinikere for deres involvering og bidrag til studiet. Forfatterne takker Kate Hendricks, MD, MPH og TM for mange nyttige redaktionelle forslag.

Endelig skylder forfatterne en dyb taknemmelighed til afdøde Sydney M Finegold, MD, for den mentorordning, der vakte interessen for mikrobiomet hos mange forskere, herunder forfatterne af denne artikel.

Bidragydere Alle forfattere (SH, NS, HSB, SD, AJP, JD, BDB, EMMQ og TJB) deltog i udarbejdelsen, den kritiske revision og godkendelse af den endelige version af manuskriptet. SH ledede studiedesignet. SH og AJP udførte den bioinformatiske analyse. SD udførte den statistiske analyse og var en væsentlig bidragyder til at skrive artiklen. SH var primært ansvarlig for fortolkningen af studieresultaterne med bidrag fra alle forfattere. EMMQ og TJB er seniorforfattere, der har givet den overordnede retning og rådgivning. SH fungerer som garant og påtager sig det fulde ansvar for arbejdet, har adgang til alle data og kontrollerede beslutningen om publicering.

Finansiering Forfatterne har ikke oplyst en specifik bevilling til denne forskning fra nogen finansieringsorganisation i den offentlige, kommercielle eller non-profit sektor.

Konkurrerende interesser SH erklærer, at hun har en økonomisk interesse i Topelia Pty Ltd i Australien og Topelia Pty Ltd i USA, hvor der udvikles forebyggende/behandlingsmuligheder mod COVID-19. Hun har også indgivet patentansøgninger relevante for coronavirusbehandlinger. Hun er grundlægger og ejer af Microbiome Research Foundation, Progenabiome og Ventura Clinical Trials.

TJB erklærer, at han har en økonomisk interesse i Topelia Pty Ltd i Australien og Topelia Therapeutics Inc. i USA, der udvikler forebyggende/behandlingsmedicin mod COVID-19. Han har også indgivet patentansøgninger relevante for COVID-19-behandlinger. SD erklærer, at hun har en virksomheds tilknytning til McKesson Specialty Health/Ontada og North End Advisory, LLC. SD er ikke bekendt med SARS-CoV-2- og mikrobiomprojekter og er ikke direkte involveret i COVID-19-relevante projekter hos McKesson, men de kan eksistere. AJP og BDB har virksomheds tilknytninger til Progenabiome. EMMQ fungerer som konsulent for Precisionbiotics, Novazymes, Salix, Biocodex og Axon Pharma og har modtaget forskningsstøtte fra 4D Pharma.

Patientsamtykke til offentliggørelse Ikke relevant.

Etisk godkendelse Undersøgelsen blev udført i overensstemmelse med de etiske principper i Helsinki-erklæringen, Den Internationale Råd for Harmoniserings harmoniserede trepartsretningslinje for god klinisk praksis og Den Etiske og Uafhængige Bedømmelsesnævn. Denne undersøgelse involverer menneskelige deltagere og blev godkendt af Den Etiske og Uafhængige Bedømmelsesnævn (IRB, IRB00007807). Deltagerne gav informeret samtykke til at deltage i undersøgelsen, før de deltog.

Proveniens og fagfællebedømmelse Ikke bestilt; eksternt fagfællebedømt.

Erklæring om datatilgængelighed Data er tilgængelige efter rimelig anmodning. Data er tilgængelige efter rimelig anmodning fra den korresponderende forfatter, Dr. Sabine Hazan.

Supplerende materiale Dette indhold er leveret af forfatteren/forfatterne. Det er ikke blevet godkendt af BMJ Publishing Group Limited (BMJ) og er muligvis ikke fagfællebedømt. Eventuelle meninger eller anbefalinger, der diskuteres, er udelukkende forfatterens/forfatternes egne og er ikke godkendt af BMJ. BMJ fraskriver sig ethvert ansvar, der måtte opstå som følge af enhver tillid til indholdet. Hvor indholdet indeholder oversat materiale, garanterer BMJ ikke for nøjagtigheden og pålideligheden af oversættelserne (herunder, men ikke begrænset til, lokale regler, kliniske retningslinjer, terminologi, lægemiddelnavne og lægemiddeldoseringer) og er ikke ansvarlig for eventuelle fejl og/eller udeladelser, der måtte opstå som følge af oversættelse, tilpasning eller andet.

Open access Dette er en artikel med åben adgang, der distribueres i overensstemmelse med Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0)-licensen, som tillader andre at distribuere, remixe, tilpasse, bygge videre på dette værk ikke-kommercielt og licensere deres afledte værker på andre vilkår, forudsat at det originale værk er korrekt citeret, passende kreditering er angivet, eventuelle ændringer er angivet, og brugen er ikke-kommerciel. Se: http://creativecommons.org/licenser/by-nc/4.0/.

ORCID iD'er

Sonya Dave http://orcid.org/0000-0002-7653-0388
Eamonn MM Quigley http://orcid.org/0000-0003-4151-7180

REFERENCER

1 De Vuyst L, Moens F, Selak M, et al. Sommermøde 2013: vækst og fysiologi af bifidobakterier. J Appl Microbiol 2014;116:477–91.
2 Parameswaran N, Patial S. Tumornekrosefaktor-ÿ-signalering i makrofager. Crit Rev Eukaryot Gene Expr 2010;20:87–103.
3 Martins AKS, Martins FS, Gomes DA, et al. Evaluering af in vitro-antagonisme og in vivo-immunmodulering og beskyttelse mod patogen eksperimentel infektion med to probiotiske stammer af Bifidobacterium animalis var. lactis. Arch Microbiol. 2010;192:995–1003.
4 Groeger D, Schiavi E, Grant R, et al. Intranasal Bifidobacterium longum beskytter mod virusinduceret lungebetændelse og -skade i en murin model af dødelig influenzainfektion. EBioMedicine 2020;60:102981.
5 Konieczna P, Akdis CA, Quigley EMM, et al. Portræt af en immunregulerende Bifidobacterium. Tarmmikrober 2012;3:261–6.
6 Konieczna P, Ferstl R, Ziegler M, et al. Immunmodulering ved Bifidobacterium infantis 35624 i den murine lamina propria kræver retinsyreafhængige og uafhængige mekanismer. PLoS One 2013;8:e62617.
7 Schiavi E, Plattner S, Rodriguez-Perez N, et al. Exopolysaccharid fra Bifidobacterium longum subsp. longum 35624™ modulerer murine allergiske luftvejsreaktioner. Benef Microbes 2018;9:761–73.
8 Ruiz L, Delgado S, Ruas-Madiedo P, et al. Bifidobakterier og deres Molekylær kommunikation med immunsystemet. Frontmikrobiologisk 2017;8:2345.
9 Marras L, Caputo M, Bisicchia S, et al. Bifidobakteriers rolle i prædiktiv og forebyggende medicin: fokus på eksem og hyperkolesterolæmi. Mikroorganismer 2021;9. doi:10.3390/mikroorganismer9040836. [Epub før tryk: 14.04.2021].
10 Stavropoulou E, Bezirtzoglou E. Probiotika i medicin: en lang debat. Front Immunol. 2020;11:2192.
11 Ahlawat S, Sharma KK. Immunologisk koordinering mellem tarm og lunger ved SARS-CoV-2-infektion. Virus Res. 2020;286:198103.
12 Follmer C. Virusinfektionsinduceret tarmdysbiose, neuroinflammation og ÿ-synuclein-aggregering: opdateringer og perspektiver på COVID-19 og neurodegenerative lidelser. ACS Chem Neurosci 2020;11:4012–6.
13 Marsland BJ, Trompette A, Gollwitzer ES. Tarm-lunge aksen ind luftvejssygdomme. Ann Am Thorac Soc 2015;12 Tillæg 2:S150–6.
14 Janda L, Mihalÿin M, Šÿastná M. Er et sundt mikrobiom ansvarligt for lavere dødelighed i COVID-19? Biologia 2021;76:819–29.
15 Tiwari SK, Dicks LMT, Popov IV m.fl. Probiotika i krig mod virus: hvad mangler i billedet? Front Microbiol 2020;11:11.
16 Bozkurt HS, Quigley EM. Probiotikaen Bifidobacterium i Håndtering af coronavirus: Et teoretisk grundlag. Int J Immunopathol Pharmacol 2020;34:2058738420961304.
17 Jin X, Lian JS, Hu JH m.fl. Epidemiologiske, kliniske og virologiske karakteristika for 74 tilfælde af coronavirusinficeret sygdom i 2019 (COVID-19) med gastrointestinale symptomer. Gut 2020;69:1002–9.
18 Gu S, Chen Y, Wu Z m.fl. Ændringer i tarmfloraen hos patienter med coronavirussygdom 2019 eller H1N1-influenza. Clin Infect Dis 2020;71:2669–78.

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.

Machine Translated by Google

19 Zuo T, Liu Q, Zhang F m.fl. Skildring af SARS-CoV-2 fækal virus aktivitet i forbindelse med tarmmikrobiotaens sammensætning hos patienter med COVID-19. Tarm 2021;70:276–84.
20 Yeoh YK, Zuo T, Lui GC-Y m.fl. Sammensætningen af tarmmikrobiotaen afspejler sygdommens sværhedsgrad og dysfunktionelle immunresponser hos patienter med COVID-19. Gut 2021;70:698–706.
21 Xu K, Cai H, Shen Y. Håndtering af COVID-19: Zhejiang erfaring. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2020;49:147–57.
22 Liu Q, Mak JWY, Su Q m.fl. Dynamik i tarmmikrobiota i en en prospektiv kohorte af patienter med postakut COVID-19-syndrom. Tarm 2022;71:544–52.
23 Din AU, Hassan A, Zhu Y, et al. Hæmmende effekt af Bifidobacterium bifidum ATCC 29521 på colitis og dens mekanisme. J Nutr Biochem 2020;79:108353.
24 Nitzan O, Elias M, Peretz A m.fl. Antibiotikas rolle for behandling af inflammatorisk tarmsygdom. World J Gastroenterol 2016;22:1078–87.
25 Valdés-Varela L, Hernández-Barranco AM, Ruas-Madiedo P, et al. Effekt af Bifidobacterium på Clostridium difficile vækst og toksicitet ved samdyrkning i forskellige præbiotiske substrater. Front Microbiol 2016;7:738.
26 Wei Y, Yang F, Wu Q m.fl. Beskyttende virkninger af bifidobakteriestammer mod toksigen Clostridium difficile. Front Microbiol 2018;9:888.
27 Philippe D, Heupel E, Blum-Sperisen S, et al. Behandling med Bifidobacterium bifidum 17 beskytter delvist mus mod Th1-drevet inflammation i en kemisk induceret model af colitis. Int J Food Microbiol 2011;149:45–9.
28 Oversigt over varianter i lande. Tilgængelig: https://covariants.org/ pr. land
29 Tao W, Zhang G, Wang X m.fl. Analyse af tarmfloraen hos COVID-19-patienter og dens korrelation med den inflammatoriske faktor IL-18. Med Microecol 2020;5:100023.
30 Yagisawa MFP, Hanaki H, ÿmura S. Globale tendenser inden for klinisk Studier af ivermectin i COVID-19. Japansk tidsskrift for antibiotika 2021;74:44–94.
31 Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. Mikrobiomet i inflammatorisk tarmsygdom: nuværende status og fremtiden. Gastroenterologi 2014;146:1489–99.
32 Negi S, Das DK, Pahari S m.fl. Potentiel rolle af tarmmikrobiota i induktion og regulering af medfødt immunhukommelse. Front Immunol 2019;10:2441.
33 Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. Det sunde menneskelige mikrobiom. Genome Med 2016;8:51.
34 Ghouri YA, Richards DM, Rahimi EF m.fl. Systematisk gennemgang af randomiserede kontrollerede forsøg med probiotika, præbiotika og synbiotika ved inflammatorisk tarmsygdom. Clin Exp Gastroenterol 2014;7:473–87.
35 Hughes KR, Harnisch LC, Alcon-Giner C, et al. Bifidobacterium breve reducerer apoptotisk epitelcelleafgivelse på en exopolysaccharid- og MyD88-afhængig måde. Open Biol 2017;7:160155.
36 Fanning S, Hall LJ, Cronin M m.fl. Bifidobakterielle overflade-Exopolysaccharid fremmer interaktion mellem kommensal og vært gennem immunmodulering og patogenbeskyttelse. Proc Natl Acad Sci U SA 2012;109:2108–13.
37 Arboleya S, Watkins C, Stanton C m.fl. Gut bifidobakteriepopulationer i menneskers sundhed og aldring. Front Microbiol 2016;7:1204.
38 Ferreira-Halder CV, Faria AVdeS, Andrade SS. Handling og funktion af Faecalibacterium prausnitzii i sundhed og sygdom. Bedste praksis Res Clin Gastroenterol 2017;31:643–8.
39 Ganesan K, Chung SK, Vanamala J, et al. Årsagssammenhæng Mellem kostinducerede ændringer i tarmmikrobiotaen og diabetes: en ny strategi til transplantation af Faecalibacterium prausnitzii til forebyggelse af diabetes. Int J Mol Sci 2018;19. doi:10.3390/ijms19123720. [Epub før tryk: 22. november 2018].
40 Greene MW, Roberts AP, Frugé AD. Negativ sammenhæng mellem overholdelse af middelhavskosten og COVID-19-tilfælde og relaterede dødsfald i Spanien og 23 OECD-lande: en økologisk undersøgelse. Front Nutr 2021;8:59-1964.
41 Tang L, Yin Z, Hu Y m.fl. Det er afgørende at kontrollere cytokinstormen ved COVID-19. Front Immunol 2020;11:570993.
42 Zhao M. Cytokinstorm og immunmodulerende terapi i COVID-19: Klorokins og monoklonale anti-IL-6 antistoffers rolle. Int J Antimikrobielle Agenter 2020;55:105982.
43 Biagi E, Nylund L, Candela M m.fl. Gennem aldring og videre: Tarmmikrobiota og inflammatorisk status hos seniorer og hundredårige. PLoS One 2010;5:e10667.
44 Center for Sygdomsbekæmpelse. Personer med visse medicinske tilstande. Tilgængelig: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/people-with-medical-conditions.html

BMJ Open Gastroenterol: først udgivet som 10.1136/bmjgast-2022-000871 den 28. april 2022. Downloadet fra http://bmjopengastro.bmj.com/ den 11. februar 2024 af gæst. Beskyttet af ophavsret.